

4
XP-002170711

AN - 1997-410809 [38]

AP - JP19950354405 19951228

CPY - MROP

DC - B03

FS - CPI

IC - A61K31/40 ; C07D207/16

MC - B07-D03 B14-A01A B14-E08 B14-E10 B14-N12

M2 - [01] F011 F013 F423 G010 G011 G012 G013 G019 G020 G021 G030 G040 G050
G100 G111 G112 G221 G553 G563 H2 H211 H713 H716 H721 J0 J012 J2 J211
J271 J3 J331 J341 J371 J390 J581 L420 L432 L450 L462 L463 M121 M123
M137 M210 M211 M212 M213 M214 M215 M216 M220 M221 M222 M223 M224 M225
M226 M231 M232 M233 M273 M280 M281 M282 M311 M312 M313 M314 M315 M316
M321 M322 M331 M332 M333 M340 M342 M373 M382 M383 M391 M392 M413 M510
M521 M531 M532 M533 M540 M541 M710 M903 M904 P220 P617 P732 P738;

9738-10801-N

PA - (MROP) MORISHITA ROUSSEL KK

PN - JP9183764 A 19970715 DW199738 C07D207/16 009pp

PR - JP19950354405 19951228

XA - C1997-131754

XIC - A61K-031/40 ; C07D-207/16

AB - J09183764 N-Benzoylproline ester derivatives of formula (I) are new.

R1 = A-CO-CH=CH or NHR2; R2 = H, lower alkyl, cycloalkyl, lower
alkenyl, aralkyl or phenyl; A = optionally substituted phenyl; X = O
or NR3; R3 = H, lower alkyl, benzyl or phenyl; Y = O or S.

- USE - (I) are useful for the prophylaxis and treatment of peptic
ulcers. They have cholecystokinin (CCK-A, CCK-B) and gastrin receptor
antagonist activities and antibacterial activity against Helicobacter
pylori.

- (Dwg.0/0)

CN - 9738-10801-N

IW - NEW N BENZOYL PROLINE ESTER COMPOUND CHOLECYSTOKININ GASTRIN
ANTAGONIST ANTI BACTERIA ACTIVE USEFUL TREAT PEPTIC ULCER

IKW - NEW N BENZOYL PROLINE ESTER COMPOUND CHOLECYSTOKININ GASTRIN
ANTAGONIST ANTI BACTERIA ACTIVE USEFUL TREAT PEPTIC ULCER

NC - 001

OPD - 1995-12-28

ORD - 1997-07-15

PAW - (MROP) MORISHITA ROUSSEL KK

T1 - New N-benzoyl-proline ester compounds are cholecystokinin and gastrin
antagonists - also have anti-bacterial activity, useful in treatment
of peptic ulcers

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-183764

(43)公開日 平成9年(1997)7月15日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 D 207/16			C 07 D 207/16	
A 61 K 31/40	ACJ	A 61 K 31/40	ACJ	
	ACL		ACL	
	ADZ		ADZ	
	AED		AED	

審査請求 未請求 請求項の数4 FD (全9頁)

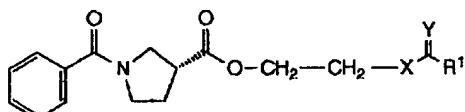
(21)出願番号	特願平7-354405	(71)出願人	000191766 ルセル森下株式会社 東京都港区赤坂2丁目17番51号
(22)出願日	平成7年(1995)12月28日	(72)発明者	鶴村 浩 滋賀県神崎郡五個荘町石馬寺308番26号
		(72)発明者	フレブニコフ ウラジミール アレクセイ ピッチ 滋賀県野洲郡野洲町大森原1823番1号 B 106
		(72)発明者	上崎 利昭 滋賀県守山市梅田町5番1号 藤和ハイタ ウン守山4 09号
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 N-ベンゾイルプロリンエステル誘導体

(57)【要約】

【構成】下記の一般式(I)

【化1】



[I]

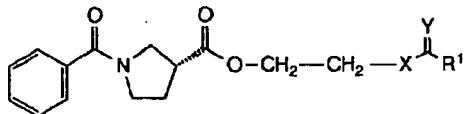
【式中、R¹はA-CO-CH=CH-基 (Aはフェニル基等)又はNHR²で示されるアミノ基 (R²は水素原子、低級アルキル基、フェニル基等) ; Xは酸素原子又はNR³で示されるイミノ基 (R³は水素原子、低級アルキル基等) ; Yは酸素原子又は硫黄原子】で表わされるN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体。

【効果】本発明化合物(I)は、CCK-A、CCK-B及びガストリン受容体拮抗作用を有し、ヘリコバクター・ピロリに対して強い抗菌作用を示すことから、消化器官系疾患の予防及び治療薬として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の一般式(I)

【化1】



[1]

[式中、R¹はA-CO-CH=CH-基（Aは置換基を有していてもよいフェニル基を表す。）又はNHR²で示されるアミノ基（R²は水素原子、低級アルキル基、シクロアルキル基、低級アルケニル基、アラルキル基又はフェニル基を表す。）を表す。Xは酸素原子又はNR³で示されるイミノ基（R³は水素原子、低級アルキル基、ベンジル基又はフェニル基を表す。）を表す。Yは酸素原子又は硫黄原子を表す。]で表わされるN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体。

【請求項2】 R¹はNHR²で示されるアミノ基（R²はメチル基又はフェニル基を表す。）であり、XはNR³で示されるイミノ基（R³は水素原子又はメチル基を表す。）であり、Yは酸素原子又は硫黄原子である請求項1に記載の化合物。

【請求項3】 R¹はA-CO-CH=CH-基（Aはフェニル基を表す）であり、Xは酸素原子又はNR³で示されるイミノ基（R³は水素原子又はメチル基を表す。）であり、Yは酸素原子である請求項1に記載の化合物。

【請求項4】 請求項1～3のいずれか1項記載の化合物を有効成分とする消化器官系疾患の予防又は治療のための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、コレシストキニン(CCK)-A、B受容体及びガストリン受容体に対して優れた拮抗作用を有し、さらにヘリコバクター・ピロリ(Helicobacter pylori、以下HPと略称する。)に対して強い抗菌作用を示すことから、消化器官系疾患、特に消化性潰瘍等の予防及び治療に有用なN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体を含有する医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】本発明化合物と類似の構造を持ったプロリン誘導体は、種々提案されており、例えばACE阻害作用を有する降圧剤であるカブトアリル、エナラアリル(特開昭52-116457号公報)等が知られている。また、プロリン残基を有するペプチド誘導体としては、冠疾患及び器質性脳症候群治療剤(特開昭62-215523号公報)、プロリンエンドペプチダーゼ阻害作用を有する抗健忘症剤(特開昭64-68396号公

報)及びCCK-ガストリン受容体拮抗剤(アメリカ特許5340801号)等が知られている。さらに、特開平7-252217号公報には蛋白分解酵素阻害活性を有する経口抗凝固剤及び脾疾患治療剤等に有用なプロリンアミド誘導体が開示されている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】HPに対する抗菌作用並びにこの作用を有する物質については、日本臨床第51巻、第12号(1993年)に記載されている。すなわち、HPはヒト胃粘膜表層部から分離された微好気性グラム陰性螺旋状桿菌であり、ヒトの胃及び十二指腸疾患に深く関与していることが指摘されている。特に本菌の感染が消化性潰瘍の癒延と難治化および再発の大きな要因であることが明らかにされるに従って、消化性潰瘍の再発予防及び治療をする上でHPの除菌を試みることが必須であると考えられるようになった。現在のところ、HPを除菌するためには、ペニシリン系、セファロスポリン系、テトラサイクリン系、ニューキノロン系、マクロライド系等の抗生物質、ビスマス製剤、プロトンポンプインヒビター、ヒスタミンH₂受容体拮抗剤及びプラウトノール、ソファルコン、塩酸ベネキサート等の抗潰瘍剤とを組み合わせて投与する併用療法が試みられている。しかしながら、HPに対して未だ充分な除菌効果が得られていないのが現状で、より有効な抗菌剤が望まれている。一方、CCK-A、CCK-B及びガストリン受容体拮抗作用並びにそれらの作用を有する物質についてはアーネルス オブ ザ ニューヨークアカデミー オブ サイエンス、第713巻、1～167ページ(1994年)〔Annals of The New York Academy of Sciences, 713, 1～167(1994)〕に記載されている。すなわち、CCK及びガストリン受容体に対して拮抗作用を示す物質は、消化器官系疾患の予防及び治療に有効であるとして、現在までに数多くの拮抗性物質が見い出されている。また、消化性潰瘍の予防及び治療薬としてもプログルミドをはじめとして、グルタミン酸誘導体、N-アシルトリプトファン誘導体、グリシン尿素誘導体、1,4-ベンゾジアゼピン誘導体等数多くのCCK及びガストリン受容体拮抗物質が見い出されている。以上のように消化器官系疾患、特に消化性潰瘍の再発予防及び治療には、HPに対する抗菌剤やCCK及びガストリン受容体拮抗物質が有用であることが知られている。しかしながら、消化器官系疾患、特に消化性潰瘍の再発予防及び治療に有用であると考えられるCCK及びガストリン受容体拮抗作用並びにHPに対する抗菌作用を併せ持った医薬品は現在のところ知られておらず、両作用を併せ持つことで、より優れた予防及び治療効果が期待できる。従って、本発明は、CCK-A、CCK-B及びガストリン受容体拮抗作用を有し、さらに、消化性潰瘍に深く関与していると考えられているHPに対して優れた抗菌作用を併せ持つ消化器官系疾患、特に消化

性潰瘍の再発予防及び治療するための医薬組成物を提供することを課題とする。

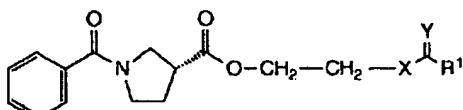
【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは前記のような状況に鑑みて、鋭意研究を行った結果、従来のプロリン誘導体とは異なる新規なN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体がCCK-A、CCK-B及びガストリン受容体拮抗作用を有し、かつHPに対して強い抗菌作用を有することを見い出し、本発明を完成することができた。

【0005】すなわち、本発明は、下記の一般式(I)で表されるN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体を有効成分とするCCK-A、CCK-B、ガストリン受容体拮抗作用及びHPに対する抗菌作用を有する消化器官系疾患、特に消化性潰瘍の再発予防及び治療するための医薬組成物に関する。

【0006】

【化2】



[I]

【0007】[式中、R¹はA-CO-CH=CH-基(Aは置換基を有していてもよいフェニル基を表す。)又はNHR²で示されるアミノ基(R²は水素原子、低級アルキル基、シクロアルキル基、低級アルケニル基、アラルキル基又はフェニル基を表す。)を表す。Xは酸素原子又はNR³で示されるイミノ基(R³は水素原子、低級アルキル基、ベンジル基又はフェニル基を表す。)を表す。Yは酸素原子又は硫黄原子を表す。]で表される。

【0008】以下に、上記一般式(I)で表される本発明のN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体におけるR¹、R²、R³、X及びYの具体例を示す。

【0009】R¹が、A-CO-CH=CH-基で示される場合のAとしては、フェニル基、4-トトリル基、3,4-ジメチルフェニル基、4-メトキシフェニル基、3,4-ジメトキシフェニル基、4-ヒドロキシフェニル基及び4-クロロフェニル基等を挙げることができるが、特にフェニル基が好ましい。また、R¹がNH-R²で示されるアミノ基である場合のR²としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、シクロヘキシル基、アリル基、ベンジル基、フェネチル基及びフェニル基等を挙げができるが、特にメチル基又はフェニル基が好ましい。

【0010】Xとしては、酸素原子が好ましい。

【0011】また、XがNR³で示されるイミノ基である場合のR³としては、水素原子、メチル基、エチル

基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、ベンジル基及びフェニル基等を挙げができるが、特に水素原子又はメチル基が好ましい。

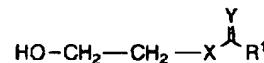
【0012】Yとしては、酸素原子又は硫黄原子が好ましい。

【0013】更に、本発明化合物(I)は、少なくとも1つの不斉中心を含有しており、これらの光学異性体も本発明に含まれる。更に本発明化合物(I)には、構造による幾何異性体も含まれる。

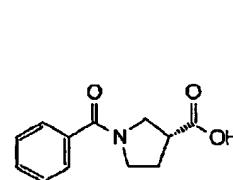
【0014】上記一般式(I)で表されるN-ベンゾイルプロリンエステル誘導体は、種々の方法で製造できるが、代表的な方法を挙げれば以下の通りである。

【0015】

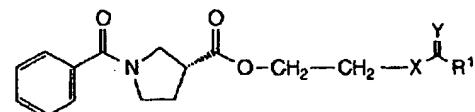
【化3】



[II]



[III]



[IV]

【0016】[式中、R¹、X及びYは前記と同義である。]

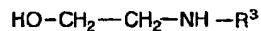
【0017】本発明に含まれる化合物(I)は、2-置換エチルアルコール誘導体(II)とN-ベンゾイルプロリン(III)を、通常、塩基の存在又は非存在下で溶媒中、ペプチド合成に使用されるカップリング試薬を用いて反応させることにより製造できる。反応に用いる溶媒は、塩化メチレン、クロロホルム、四塩化炭素、ベンゼン、トルエン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、アセトニトリル、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等の有機溶媒を挙げることができるが、特に塩化メチレン及びテトラヒドロフランが好ましい。また、この反応に用いる塩基としては、4-ジメチルアミノピリジンが好ましい。さらにカップリング試薬としては、N, N'-ジシクロヘキシカルボジイミド、N, N'-カルボニルジイミダゾール、N, N'-ジスクシニイミドカーボナート、N, N'-ジスクシニイミジルオキザラート等を挙げること

ができるが、特にN, N' -ジシクロヘキシルカルボジイミドが好ましい。反応温度は0°Cから溶媒の沸点程度であるが、特に室温程度が好ましく、反応時間は通常30分から48時間の範囲内で行うことができる。

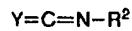
【0018】前記の反応において原料として用いた2-置換エチルアルコール誘導体(IIa、IIb及びIIc)は、以下の方法により製造することができる。

【0019】

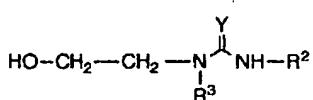
【化4】



[IV]



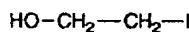
[V]



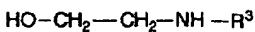
[IIa]



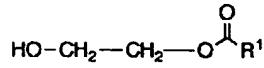
[VI]



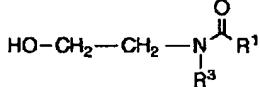
[VII]



[IV]



[IIb]



[IIc]

【0023】[式中、R¹及びR³は前記と同義である。]

【0024】化合物(IIb)は、化合物(VI)と化合物(VII)を原料に用い、WO94/14749号に記載の方法に従って合成できる。

【0025】一方、化合物(IIc)は、化合物(VI)と化合物(IV)を原料に用い、ジャーナル オブ ファーマシー アンド ファーマコロジー、第29巻、147~152ページ(1977年) [J. Pharm. Pharmac., 29, 147~152(1977)] に記載の方法に従って合成でき

【0020】[式中、R²、R³及びYは前記と同義である。]

【0021】化合物(IIa)は、化合物(IV)と化合物(V)を原料に用い、ジャーナルオブ ファーマシュチカル サイエンス、第59巻、第10号、1515~1518ページ(1970年) [J. Pharm. Sci., 59(10), 1515~1518(1970)] に記載の方法に従って合成できる。

【0022】

【化5】

る。

【0026】本発明化合物(I)はCCK-A、CCK-B、ガストリン受容体拮抗作用及びヘリコバクター・ピロリに対する強い抗菌作用を有することから消化器官系疾患の予防及び治療に有用である。本発明化合物を医薬として用いる場合の一般的な製剤の形態としては、例えば、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤又は注射剤などとして、経口又は非経口的に投与することができる。

【0027】製剤化の際は、通常の製剤担体を用い、常

法に従って製造できる。すなわち、経口用固体製剤を製造する場合は、主薬に賦形剤及び必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤などを加えた後、常法に従って錠剤、被覆剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤などとする。ここで賦形剤としては、例えば乳糖、ショ糖、デンプン、タルク、セルロース、デキストリン等が用いられる。これらの錠剤、顆粒剤に糖衣、ゼラチン衣、その他必要により適宜コーティングを施すことは何等差し支えない。また、非経口投与のための注射剤を調製する場合には、主薬に溶剤又は懸濁剤、例えば水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、レシチン等が用いられ、必要に応じてpH調整剤、緩衝剤、安定化剤、可溶化剤などを添加し、常法により皮下、筋肉内、静脈内用注射剤とすることができます。

【0028】本発明化合物(I)の投与量及び投与回数は患者の症状、年齢、体重等に応じて適宜選択することができる。例えば、一般成人に対して一日5~1500mg、好ましくは20~800mgを1回から数回に分けて投与してもよいし、間欠投与してもよい。また、注射剤として用いる場合には、一回量0.01~100mgを連続又は間欠投与してもよい。

【0029】

【実施例】以下に、本発明を実施例、製剤例及び試験例により具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例、製剤例及び試験例に限定されるものではない。

【0030】【実施例1】

N-[N-ベンゾイル-(S)-プロリノイルオキシエチル]-N'-フェニル尿素の合成
N-ベンゾイル-(S)-プロリン(2.19g, 10mmol)とN-(2-ヒドロキシエチル)-N'-フェニル尿素(1.8g, 10mmol)を塩化メチレン(50ml)に溶解し、4-ジメチアミノピリジン(0.122g, 1mmol)を加えた後、室温でN、N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(2.06g,

10mmol)の塩化メチレン(10ml)溶液を加えた。室温で20時間攪拌し、不溶物を沪過した後、沪液を減圧乾固し、残査に酢酸エチル(50ml)を加えて溶解し、再度不溶物を沪過した。沪液を2N塩酸洗浄、飽和炭酸ナトリウム水溶液洗浄、次いで飽和食塩水洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(溶出溶媒:クロロホルム-酢酸エチル(5:1から1:1)の混合溶媒)により精製し、表記化合物(3.55g, 9.3%)を無色油状物として得た。

【0031】 $[\alpha]_D$: -37.7 (24°C, c=1, MeOH)

IR (nujol法) ν_{max} cm⁻¹ : 3352 (NH), 1734 (C=O)

FAB-Mass (+) m/z : 382 (M+1)⁺
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 1.8~2.2 and 2.4~2.6 (3H and 1H, m, proline-CH₂CH₂), 3.25~3.45, 3.55~3.85, 3.95~4.1, 4.5~4.65 and 4.7~4.85 (1H, 3H, 1H, 1H and 1H, m, CH₂N, CHN and CH₂O), 6.13 (1H, m, NH), 6.8~6.9 and 7.0~7.15 (1H and 4H, m, Ar-H), 7.26 (1H, s, NH), 7.4~7.65 (5H, m, Ar-H)

元素分析 (C₂₁H₂₃N₃O₄)

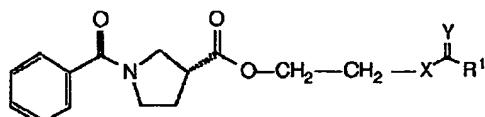
理論値(%) : C, 66.13; H, 6.08; N, 11.02

実測値(%) : C, 65.67; H, 5.85; N, 10.90

【0032】【実施例2から6】実施例1と同様の方法で得られた化合物を一括して表1に示した。

【0033】

【表1】



実施例番号	R ¹	X	Y	IR (C=O) (cm ⁻¹)	Mass (M+1) ⁺ (m/z)
2	NHPh	NMe	O	1746	396
3	NHPh	NH	S	1742	398
4	NHPh	NMe	S	1740	412
5	NHMe	NH	S	1742	336
6	NHMe	NMe	S	1742	350

【0034】〔実施例7〕

[N-ベンゾイル-(S)-プロリノイルオキシ]エチル-(E)-4-オキソ-4-フェニル-2-ブテノエートの合成

N-ベンゾイル-(S)-プロリン(2.19g, 10mmol)と(E)-2-ヒドロキシエチル-4-オキソ-4-フェニル-2-ブテノエート(2.21g, 10mmol)を塩化メチレン(50ml)に溶解し、4-ジメチルアミノピリジン(0.122g, 1mmol)を加えた後、室温でN、N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(2.06g, 10mmol)の塩化メチレン(10ml)溶液を加えた。室温で20時間攪拌し、不溶物を沪過した後、沪液を減圧乾固し、残査に酢酸エチル(50ml)を加えて溶解し、再度不溶物を沪過した。沪液を2N塩酸洗浄、飽和炭酸ナトリウム水溶液洗浄、次いで飽和食塩水洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残留物をシリカゲルクロマトグラフィー〔溶出溶媒：クロロホルム-メタノール(50:1)さらにヘキサン-酢酸エチル(2:1)の混合溶媒〕により精製し、表記化合物(1.3g, 31%)を淡黄色油状物として得た。

【0035】 $[\alpha]_D$: -39.7 (24°C, c=1.03, MeOH)

IR (film法) ν_{max} cm⁻¹ : 1726 (C=O)
 FAB-Mass (+) m/z : 422 (M+1)⁺
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 1.8-2.15 and 2.25-2.45 (3H and 1H, m, proline-CH₂CH₂), 3.45-3.7 (2H, m, CH₂N), 4.35-4.55 (4H, m, CH₂O), 4.65-4.75 (1H, m, CHN), 6.88 (1H, d, J=15.6Hz, =CH), 7.3-7.7 (8H, m, Ar-H), 7.9-8.05 (3H, m, Ar-H and =CH)

元素分析 (C₂₄H₂₃NO₆)

理論値(%) : C, 68.40; H, 5.50; N, 3.32

実測値(%) : C, 67.90; H, 5.26; N, 3.32

【0036】〔実施例8〕

N-{[N-ベンゾイル-(S)-プロリノイルオキシ]エチル}-(E)-4-オキソ-4-フェニル-2-ブテナミドの合成

実施例1と同様の方法で表記化合物(2.65g, 63%)を淡黄色油状物として得た。

$[\alpha]_D$: -29.9 (26°C, c=1.07, MeOH)

IR (film法) ν_{max} cm⁻¹ : 3300 (NH),

実施例8の化合物

乳糖

コーンスター

1742 (C=O)

FAB-Mass (+) m/z : 421 (M+1)⁺
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 1.8-2.2 and 2.28-2.42 (3H and 1H, m, proline-CH₂CH₂), 3.5-3.85 (2H, m, CH₂N), 4.25-4.46 (3H, m, CH₂O and CHN), 6.93 (1H, d, J=5.3Hz, =CH), 7.3-7.65 (9H, m, Ar-H and NH), 7.86 (1H, d, J=15.3Hz, =CH), 7.95-8.05 (2H, m, Ar-H)

元素分析 (C₂₄H₂₄N₂O₅)

理論値(%) : C, 68.56; H, 5.75; N, 6.66

実測値(%) : C, 68.67; H, 5.58; N, 6.31

【0037】〔実施例9〕

N-{[N-ベンゾイル-(S)-プロリノイルオキシ]エチル}-N-メチル-(E)-4-オキソ-4-フェニル-2-ブテナミドの合成

実施例1と同様の方法で表記化合物(0.95g, 22%)を淡黄色油状物として得た。

$[\alpha]_D$: -49.2 (25°C, c=1.00, MeOH)

IR (film法) ν_{max} cm⁻¹ : 1744 (C=O)
 FAB-Mass (+) m/z : 435 (M+1)⁺
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 1.8-2.15 and 2.25-2.4 (3H and 1H, m, proline-CH₂CH₂), 3.14 and 3.28 (3H, each s, N-CH₃), 3.45-3.9 (2H, m, CH₂N), 4.3-4.7 (3H, m, CH₂O and CHN), 7.3-7.7 (9H, m, Ar-H and =CH), 7.93 (1H, d, J=15.0Hz, =CH), 8.0-8.1 (2H, m, Ar-H)

元素分析 (C₂₅H₂₆N₂O₅)

理論値(%) : C, 69.11; H, 6.03; N, 6.45

実測値(%) : C, 68.71; H, 6.17; N, 6.17

【0038】〔製剤例1〕実施例8の化合物及び乳糖を混合粉碎し、この混合物に乳糖、コーンスター、微結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、タルクを加えて、さらに均一に混合し、打錠機を用いて加圧成型して有効成分50mgを含有する200mg/錠の錠剤を製造した。

50mg

60mg

40mg

微結晶セルロース	30 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	8 mg
ステアリン酸マグネシウム	1 mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	10 mg
タルク	1 mg
	計 200 mg

【0039】〔製剤例2〕下記成分を混合し、打錠機を用いて加圧成型して有効成分100 mgを含有する22

実施例9の化合物	100 mg
微結晶セルロース	55 mg
乳糖	49 mg
ステアリン酸マグネシウム	2 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	2 mg
カルボキシメチルセルロースナトリウム	15 mg
タルク	2 mg
	計 225 mg

【0040】〔製剤例3〕実施例7の化合物及び乳糖を混合粉碎し、この混合物を乳糖、コーンスター、ステアリン酸マグネシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ヒドロキシプロピルセルロース及び軽質無水

実施例7の化合物	50 mg
乳糖	115 mg
コーンスター	20 mg
ステアリン酸マグネシウム	1 mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	10 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	2 mg
軽質無水ケイ酸	2 mg
	計 200 mg

【0041】〔製剤例4〕下記化合物をよく混合した後、湿潤液(30%エタノール)を加えて練合し、押し出し造粒機で造粒し、直ちにマルメライザーで整粒した後、乾燥、篩過して12~42メッシュの柱状顆粒を製造した。

柱状顆粒200 mg中の組成

実施例8の化合物	50 mg
乳糖	59 mg
コーンスター	40 mg
微結晶セルロース	39 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	2 mg
カルボキシメチルセルロース	10 mg

【0042】〔製剤例5〕実施例7の化合物を1mlあたり1 mg含有する下記成分からなる注射剤を常法により製造した。

実施例7の化合物	10 mg
注射用ポリエチレングリコール400	2 ml
塩化ナトリウム	1 mg

注射用蒸留水を加えて全量10 mlとする。

【0043】〔試験例1〕インビトロにおけるCCK-A、CCK-B及びガストリン受容体拮抗作用に関する試験

ケイ酸を加えて、さらに均一に混合した。これを1カプセルあたり200 mgの割合で3号ゼラチン硬カプセルに充填してカプセル剤を製造した。

実施例7の化合物	50 mg
乳糖	115 mg
コーンスター	20 mg
ステアリン酸マグネシウム	1 mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	10 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	2 mg
軽質無水ケイ酸	2 mg
	計 200 mg

(1) CCK-A及びCCK-B受容体拮抗作用
CCK受容体標品の作成: ddY系雄性マウスを断頭屠殺後、脾臓(CCK-A)及び大脳皮質(CCK-B)を速やかに摘出した。

受容体標本(粗膜分画)の調製: マウスを断頭屠殺し、直ちに大脳及び脾臓を取り出し、あらかじめ冷却しておいたPBS液で洗浄し、大脳皮質を分離した。脾臓及び大脳皮質は冷却した50 mMトリスバッファー(pH 7.4)で再度洗浄した。脾臓は0.5~1.0 g/バイアルに秤量し、使用時まで-80°Cに保存した。10倍量の50 mMトリスバッファーを加え、テフロンーガラスホモジナイザーにてホモジナイズ(7ストローク)し、さらにポリトロンホモジナイザーにて20秒間ホモジナイズした。15分間40000×gにて遠心分離し、ペレットを得た。さらに10倍量の50 mMトリスバッファーを加え、ポリトロンホモジナイザーにて20秒間ホモジナイズし、同様に遠心分離し、ペレットを得た(2回繰り返し、蛋白質量を測定した)。10倍量のインキュベーションバッファー(10 mM HEPE S、130 mM NaCl、4.7 mM KC1、5 mM MgCl₂、6 H₂O、1 mM EGTA、5 mg/ml BSA及び0.25 mg/mlバシトロシンを含

む)を加え、ポリトロンホモジナイザーにて20秒間ホモジナイズ後、同バッファーにて大脳皮質は最終的に200倍、脾臓は100倍希釈し、それぞれCCK-B及びCCK-A受容体標本とした。

バイディングアッセイ：

被験薬液の調製：ガラス試験管にそれぞれ被験化合物を秤量し、DMSO液に溶解して10mM濃度、さらに蒸留水で2倍、50%DMSO液で2倍希釈して2.5mM(最終濃度0.1mM)の被験薬液を調製した。チューブに被験薬液20μl、[³H]CCK-8(50nM)10μl及び受容体標本470μlを添加した。25℃で30分間インキュベーションした後、吸引沪過(Whatman glass microfilter, GF/C)、冷却した50mMトリスバッファーにて3回洗浄した。5mlのインスタゲルカクティルを加え、振盪後数時間放置し、放射能を液体シンチレーションカウンターにより5分間計測した。総結合数の測定は、被験薬液の代わりに50%DMSO液20μlを用い、また非特異的結合数の測定には、セルレイン(cerulein)(1μM)20μlを用い、同様に行つた。被験薬液(0.1mM濃度)の特異的な結合数[総結合数(dpm) - 非特異的結合数(dpm)]を算出し、競合的阻害率を求め、その結果を表2に示した。

【0044】(2) ガストリン受容体拮抗作用

ガストリン受容体標品の作成：Hartley系雄性モルモットを断頭屠殺後、胃を速やかに摘出し、バーグリン及びオブリンク、アクタ・フィジオロジカ・スカンジナビカ、第96巻、第150ページ、1976年[Berlingh and Obrink, Acta Physiologica Scandinavica, 96, 150(1976)]およびプライスマンら、C. J. レセプター・リサーチ、第3巻、1983年[Praissman et al., C. J. Receptor Res., 3(1983)]の方法に従つて、胃粘膜腺を調製した。

受容体標本(遊離胃腺)の調製：モルモットを断頭屠殺し、直ちに胃を摘出し、大弯部を切開し内容物を冷水中で洗浄した。胃粘膜を剥離し、完全に洗浄した後、下記成分からなる標準緩衝液中鋭いはさみで切り刻んだ(1

28mM NaCl、4.8mM KCl、5mM NaHCO₃、1.2mM KH₂PO₄、1.2mM MgSO₄、2mM CaCl₂、10mM グルコース及び4mM L-グルタミン、pH 7.4の12.5mM HEPESに0.025%トリプシンヒビター、MEMビタミン溶液、MEMアミノ酸溶液を添加)。切り刻んだ組織を洗浄した後、0.1%コラゲナーゼ及び0.1%BSAを含有した緩衝液と共に37℃の振盪浴中で40分間インキュベーションした。組織を20mlプラスチック製シリングに4回通過させて胃腺を遊離させた後、200メッシュフィルターに通して沪過した。沪過した胃腺を270×gで2分間遠心分離し、再懸濁及び遠心分離によって2回洗浄し、ガストリン受容体標本とした。

バイディングアッセイ：

被験薬液の調製：ガラス試験管にそれぞれ被験化合物を秤量し、DMSO液に溶解し10mM濃度(最終濃度0.1mM)を被験薬液を調製した。調製した洗浄済みモルモット胃腺をバシトラン(0.25mg/ml含有標準緩衝液40ml)に再懸濁した。シリコナ化した1.5mlプラスチックチューブに胃腺230μlを加え、15分間インキュベーションした後、10μlの緩衝液(全結合用)又はガストリン(最終濃度1μM、非特異的結合用)と2.5μlのDMSO又は被験薬液及び10μlの¹²⁵I-ガストリン(NEW、2200Ci/mmol、最終100pM)を加えた。25℃で15分間のインキュベーションした後、冷却した緩衝液1mlを添加し、9000×gで1分間遠心分離した。さらに0.5mlの緩衝液で洗浄後、遊離胃腺が沈殿したプラスチックチューブの先端をカットすることにより採取した遊離胃腺の放射能をガンマカウンターにより計測した。被験薬液(0.1mM濃度)の特異的な結合数[総結合数(dpm) - 非特異的結合数(dpm)]を算出し、競合的阻害率を求め、その結果を表2に示した。

【0045】

【表2】

実施例番号	阻害率(%) (0.1mM濃度)		
	CCK-A	CCK-B	ガストリン
3	35	29	36
7	46	76	49
8	60	34	22
9	48	61	50
プログルミド	0.6	0.9	0.9

【0046】[試験結果] 前記の表2の結果から、本発明化合物はCCK-A、CCK-B及びガストリン受容体拮抗作用を有することが明らかとなった。

【0047】[試験例2] ヘリコバクター・ピロリに対する抗菌作用
寒天希釈法を用い、それぞれのヘリコバクター・ピロリ

(標準菌株 ATCC 43504 及び ATCC 43526) に対する抗菌活性を測定した。試験に先立って、5%馬脱纖血を含むトリップチケース ソイ 寒天 (Trippticase soyagar) 斜面培地上、HP 菌を 10% CO₂/90% air 条件下、37°C 4 日間前培養した。その後、2ml のブルセラ液体培地 (Brucella broth) を加え、軽くビベッティングすることにより HP 菌液を回収した。次に、得られた菌液の 100 μl を 96 穴マルチウェルプレートに取り、650 nm における濁度を測定し、マックファーランド (MacFarland) No. 2 [衛生検査技術講座 4, 微生物学 (第5版), 338~339 (1969)] の濁度 (OD 650 約 0.148) になるようにブルセラ液体培地で調製した。一方、被験化合物はジメチルスルホキシドに溶解し、この溶媒の最終濃度が 1% 以下になるように滅菌蒸留水を加え、5 μg/ml から 80 mg/ml の 2 倍希釈系列の被験薬液

を調製した。この被験薬液を 80 μl をオートクレーブ滅菌後、48°C に保温した 10% 無菌馬血清を含むミューラー・ヒントン寒天培地 (Mueller Hinton agar) 8 ml に、被験薬液 80 μl を加え、充分に混合した後に直径 6.0 mm のシャーレに注ぎ、放冷固化してこれを試験培地とした。次に、この試験培地にブルセラ液体培地で調製した HP 菌液 5 μl をマイクロプランターで接種し、ガスパックジャー中、微好気下に 37°C で 3 日間培養した後、肉眼で可視的発育を示さない最小発育阻止濃度 (MIC) を求めた。なお、対照薬として、ストレプトマイシン、オメプラゾール及びプラウノトールを使用し、被験化合物と同様に操作してそれぞれの MIC 値を求めた。それらの結果を表 3 に示した。

【0048】

【表3】

化合物番号	MIC (μg/ml)	
	ATCC 43504	ATCC 43526
3	6.25	6.25
7	3.13	3.13
8	0.78	0.78
9	1.56	1.56
ストレプトマイシン	3.13	3.13
オメプラゾール	50.0	50.0
プラウノトール	12.5	12.5

【0049】〔試験結果〕 前記の表 3 の結果から、本発明化合物は HP に対して、強い抗菌作用を有することが明らかとなった。

【0050】〔試験例3〕 急性毒性試験

本発明化合物 (500 mg/kg) を 0.5% カルボキシメチセルロースナトリウム溶液に懸濁し、24 時間絶食した ddY 系雄性マウス (5 週令、一群 5 匹) に、

経口投与し、投与後 7 日間観察したところ、全例に死亡例は認められなかった。

【0051】

【発明の効果】 以上の結果から、本発明化合物 (I) は、CCK-A、CCK-B、ガストリン受容体拮抗作用及び HP に対して強い抗菌作用を有することから、消化器官系疾患の予防及び治療薬として有効である。

フロントページの続き

(72)発明者 西川 淳

滋賀県野洲郡野洲町久野部184-2 ヴィ
ルヌーブ 野洲909号

(72)発明者 高橋 和義

滋賀県守山市岡町60-3